

## 論文の内容の要旨

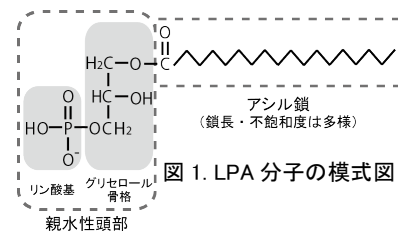
### Structural basis of ligand recognition by the lysophosphatidic acid receptor LPA<sub>6</sub>

(リゾホスファチジン酸受容体 LPA<sub>6</sub> によるリガンド認識の構造基盤)

谷口 怜哉

生体を構成する最小単位である細胞は、外部の環境の情報を受容し適切な細胞応答を引き起こすことで周囲の環境に適応する。この細胞外から細胞内への情報伝達は、細胞膜表面に存在する様々な膜受容体が細胞外のリガンドを受容することにより行われる。G タンパク質共役型受容体(GPCR)は、7 回膜貫通構造を持ち細胞内側で G タンパク質を活性化する機能を持つ膜受容体の一群であり、ヒトの場合、嗅覚受容体の一群を含め約 800 種もの GPCR を持つことが知られている。細胞膜表面に露出したリガンド結合部位を持つこと、および、様々な生理現象に関与することから、GPCR は創薬標的としても注目されており、そのリガンド認識機構の解明を目的として構造解析研究が盛んに進められてきた。しかし、これまでに 40 種を越える数の GPCR の立体構造が明らかになり、それらの受容体のリガンド認識機構、受容体活性化機構についての知見が蓄積されてきた一方で、脂質メディエーターを受容する脂質受容体についての構造情報は不足していた。

脂質メディエーターの一種であるリゾホスファチジン酸(LPA)は、グリセロール骨格とリン酸基からなる親水性頭部に 1 本のアシル鎖が結合した分子構造を持ち(図 1)、6 種の GPCR を活性化することで細胞増殖や細胞遊走などの様々な応答を引き起こす。



LPA 分子とその受容体を介して行われるシグナル伝達が癌の浸潤や肺線維症などの疾患と密接に関わることから、その生理機能のみならず創薬標的としての可能性も盛んに研究が進められてきた。6 種の LPA 受容体はアミノ酸配列に基づき、LPA<sub>1</sub>-LPA<sub>3</sub> からなる EDG ファミリーと LPA<sub>4</sub>-LPA<sub>6</sub> からなる non-EDG ファミリーに分けられる。これらの 2 つのファミリー間ではアミノ酸配列の相同性が低く、受容体の全体構造、リガンド認識機構が大きく異なっていると予想された。実際に、リガンド選択性や関与する

細胞応答も 2 ファミリー間で大きく異なっており、LPA によるシグナル伝達の理解には両ファミリーに属する受容体のリガンド認識機構の解明が不可欠であった。しかし、2015 年に報告された LPA<sub>1</sub> の結晶構造に基づき EDG ファミリーの受容体によるリガンド認識機構の理解が進んだ一方で、non-EDG ファミリーの LPA 受容体の立体構造は未だ報告されていない。Non-EDG ファミリー型 LPA 受容体に類似の脂質受容体の立体構造の報告例も無いことから、リガンド認識機構の類推さえも難しいのが現状であった。そこで本研究では、non-EDG ファミリーに属する LPA 受容体の内 LPA<sub>6</sub> に注目し、X 線結晶構造解析による受容体構造の決定と、構造情報に基づく変異体解析を通して、受容体による LPA 分子認識機構の解明を目指した。

LPA 受容体の中でも特にゼブラフィッシュ由来の LPA<sub>6</sub> が高い発現量と安定性を示したことから、これを構造解析の標的とし、その立体構造を 3.2 Å で決定した(図 2)。LPA<sub>6</sub> の構造は、膜貫通ヘリックス(TM)4 と TM5 の間に脂質膜に向かって大きく開いた疎水的な溝が形成されている点で他の GPCR とは大きく異なっていた。この溝が受容体中

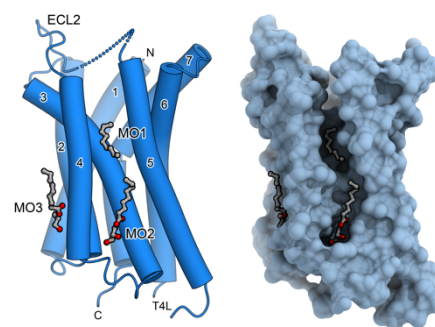


図 2. LPA<sub>6</sub> の全体構造

央のリガンド結合ポケットとつながっていることから、中央のポケットと溝が一体となって LPA 分子を収容している可能性が示唆された。この構造情報を元に、リガンドドッキングシミュレーションと受容体活性を指標としての網羅的な変異体解析を行い、想定されたリガンド結合様式を実験的に検証した。これらの多角的な解析の結果、中央のポケット内部で LPA 分子頭部のリン酸基を、脂質膜に面した疎水的な溝内部で LPA 分子のアシル鎖を、それぞれ認識する、という特殊なリガンド認識機構が明らかとなった(図 3)。また、受容体側面が大きく脂質膜に開いていることから、疎水性が高い LPA 分子が脂質膜にささった状態で側面からリガンド結合ポケットにアクセスする可能性が強く示唆された。

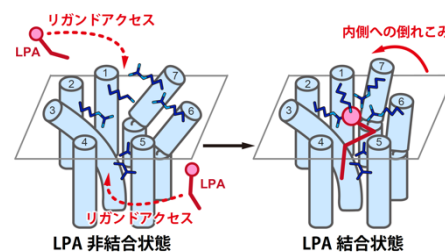


図 3. LPA<sub>6</sub> によるリガンド認識機構のモデル

本研究より明らかになった LPA<sub>6</sub> による LPA 分子認識機構は、LPA<sub>1</sub> で想定されているものとは大きく異なっており、EDG ファミリーと non-EDG ファミリー間での性質の違いの構造基盤が明らかとなった。一方で LPA<sub>6</sub> のリガンド結合様式は、配列相同性が高い核酸受容体の一群と類似しており、進化的に関連する受容体の一群の間での構造類似性についても一定の示唆が得られた。さらに、構造既知の脂質受容体とリガンド認識機構、受容体活性化機構を比較することで、これらの受容体に共通する脂質分子の認識機構について示唆を得ると同時に、これまでに他の脂質受容体についても提唱されてきた側方からのリガンドアクセス仮説の妥当性についても議論した。本研究より得られた知見と構造比較に基づく議論は、構造的知見が乏しい脂質受容体の理解を大きく進めると同時に、多数の GPCR 間での構造の共通性と多様性について有益な示唆を与えるものである。